



IN THE UNITED STATES PATENT AND TRADEMARK OFFICE

RECEIVED
JUN 3 2003
TECH CENTER 1600/2900

In re Application of :

Hegele-Hartung et al.

Serial No. : 10/083,685

Group Art Unit: 1616

Filed : February 27, 2002

Examiner: B. Badio

For : USE OF ER β -SELECTIVE LIGANDS FOR REGULATING FERTILITY
AND COMPOUNDS USEFUL THEREFOR

SUBMISSION OF PRIORITY DOCUMENT(S)

Commissioner for Patents
P.O. Box 1450
Alexandria, VA 22313-1450

Sir:

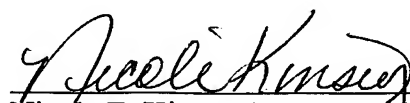
Submitted herewith is a certified copy of each of the below-identified document(s),
benefit of priority of each of which is claimed under 35 U.S.C. § 119:

| COUNTRY | APPLICATION NO. | FILING DATE |
|---------|-----------------|------------------|
| Germany | 101 51 365.8 | October 17, 2001 |
| | | |

Acknowledgment of the receipt of the above document(s) is requested.

No fee is believed to be due in association with this filing, however, the Commissioner is hereby authorized to charge fees under 37 C.F.R. §§ 1.16 and 1.17 which may be required to facilitate this filing, or credit any overpayment to Deposit Account No. 13-3402.

Respectfully submitted,


Nicole E. Kinsey (Reg. No. 32,004)
Attorney/Agent for Applicants

MILLEN, WHITE, ZELANO & BRANIGAN, P.C.
Arlington Courthouse Plaza I
2200 Clarendon Blvd. Suite 1400
Arlington, Virginia 22201
Telephone: (703) 243-6333
Facsimile: (703) 243-6410

FILED: June 27, 2003

BUNDESREPUBLIK DEUTSCHLAND

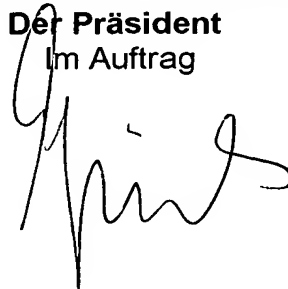


Prioritätsbescheinigung über die Einreichung einer Patentanmeldung

Aktenzeichen: 101 51 365.8
Anmeldetag: 17. Oktober 2001
Anmelder/Inhaber: Schering Aktiengesellschaft,
Berlin/DE
Bezeichnung: 17-Chlor-D-Homosteroide als selektive
Estrogenrezeptorantagonisten
IPC: C.07 J, A 61 K

Die angehefteten Stücke sind eine richtige und genaue Wiedergabe der ursprünglichen Unterlagen dieser Patentanmeldung.

München, den 04. April 2002
Deutsches Patent- und Markenamt
Der Präsident
Im Auftrag



Agurks

1

17-Chlor-D-Homosteroide als selektive Estrogenrezeptorantagonisten

Feld der Erfindung

Die vorliegende Erfindung bezieht sich auf neue Verbindungen als pharmazeutische Wirkstoffe, die in vitro eine höhere Affinität an Estrogenrezeptorpräparationen von Rattenprostata als an Estrogenrezeptorpräparationen von Rattenuterus aufweisen und in vivo durch ihre präferentielle Wirkung am Ovar eine kontrazeptive Wirkung entfalten, deren Herstellung, ihre therapeutische Anwendung und pharmazeutischen Darreichungsformen, die die neuen Verbindungen enthalten.

Bei den chemischen Verbindungen handelt es sich um neuartige steroidale gewebe selektive Estrogene.

Hintergrund der Erfindung

Kontrazeptive Methoden mit chemischen Verbindungen sind weit verbreitet bei Frauen, die nicht schwanger werden möchten. Folgende chemische Methoden der weiblichen Kontrazeption stehen uns derzeit zur Verfügung:

Das endokrine Prinzip: Unterdrückung der Ovulation durch Hemmung der Gonadotropinfreisetzung und damit der Ovulation

Verhinderung der Aszension von Spermien durch den weiblichen Reproduktionstrakt zum Eileiter wo die Befruchtung stattfindet

Verhinderung der Implantation bzw. Nidation eines befruchteten Embryos in die Gebärmutter

Spermicide

Abortauslösende Mittel

Orale Kontrazeptiva, die aus unterschiedlichsten Kombinationen von einem Östrogen mit einem Gestagen bestehen, sind die am häufigsten angewandten

Verhütungsmittel der Frau. Sie wirken nach dem endokrinen Prinzip. Obwohl derartige Verhütungsmittel sehr effektiv sind, so können doch unerwünschte Nebeneffekte auftreten wie z.B: irreguläre Blutungen, Übelkeit, Erbrechen, Depressionen, Gewichtszunahme oder Kopfschmerzen. Gelegentlich werden auch

schwerere Erkrankungen beobachtet wie Thromboembolien, Schlaganfall, Leberadenome, Gallenblasenerkrankungen oder Hochdruck, die darauf hindeuten, daß heutzutage keine effektiven Kontrazeptiva ohne Nebenwirkungen verfügbar sind. Es existiert damit die medizinische Notwendigkeit nach einer neuen kontrazeptiven Methode.

Eine ideale kontrazeptive Methode ist eine Methode, die direkt am ovariellen Follikel ansetzt ohne die endokrine Hypothalamus-Hypophysen-Ovar Achse zu beeinflussen. Dies ist zu erreichen mit einer chemischen Verbindung, die die Follikulogenese beeinträchtigt, beispielsweise durch Zerstörung einer parakrinen Interaktion zwischen der Eizelle und den Granulosazellen, und damit dafür sorgt, daß das Follikelprogramm nicht adäquat ablaufen kann, so daß eine inkompetente Eizelle heranreift, die zwar ovuliert wird aber nicht befruchtet werden kann oder das Follikelprogramm nicht adäquat ablaufen kann, so daß eine inkompetente Eizelle heranreift, die zwar ovuliert und befruchtet wird, aber zu keiner Präimplantationsentwicklung führt oder die Follikulogenese nur eingeschränkt möglich ist und es zu keiner Ovulation kommt.

Follikelwachstum ist die Entwicklung eines ovariellen Follikels vom Primordialstadium bis hin zum großen antralen sprungreifen Follikel. Nur ein optimal aufgebauter antraler Follikel hat das Potential eine reife Eizelle zu ovulieren. Patientinnen mit ovarieller Infertilität, z.B. PCOS (=Polizystisches Ovar Syndrom) Patientinnen, haben eine gestörte Follikulogenese assoziiert mit Hormon- und Ovulationsstörungen sowie insuffizient gereifte Eizellen (Franks et al. (2000) Mol Cell Endocrinol 163: 49-52).

Es gibt immer mehr Hinweise dafür, daß die frühen Stadien der Follikulogenese, d.h. die Entwicklungsschritte vom Primordialfollikel bis hin zum frühen antralen Follikel, Gonadotropin-unabhängig sind, jedoch ist noch nicht abschließend geklärt welche der identifizierten autokrinen oder parakrinen Faktoren (Elvin et al. (1999), Mol Cell Endocrinol 13: 1035 –1048; McNatty et al. (1999), J Reprod Fertil Suppl 54: 3 – 16) die wichtigsten bei der frühen Follikulogenese sind. Gonadotropine, wie z. B. FSH (Follikel stimulierendes Hormon) dagegen sind hauptsächlich in die späten Schritte der Follikulogenese, d.h. der Entwicklung vom frühen antralen zum großen, ovulatorischen Follikel, involviert. Aber auch bei der späten Follikulogenese werden zusätzliche Modulatoren der Follikulogenese diskutiert (Elvin et al. (1999), Mol Cell Endocrinol 13: 1035 –1048).

Kürzlich wurde der Estrogenrezeptor- β (ER β) als zweiter Subtyp des Estrogenrezeptors entdeckt (Kuiper et al. (1996), Proc. Natl. Acad. Sci. 93:5925-5930; Mosselman, Dijkema (1996) Febs Letters 392: 49-53; Tremblay et al. (1997), Molecular Endocrinology 11: 353-365). Das Expressionsmuster von ER β unterscheidet sich von dem des ER α (Kuiper et al. (1996), Endocrinology 138: 863-870). Wogegen eine Expression von ER α in nahezu allen untersuchten Organen nachweisbar war, fand sich die höchste Expression von ER β in weiblichen Tieren im Ovar, bei männlichen Tieren in der Prostata (Couse et al. (1997) Endocrinology 138: 4613-4621). Im Ovar zeigt sich eine deutliche ER β Expression in Follikeln nahezu aller Entwicklungsstadien: Während in den Follikeln ER α nur in den äußeren Follikelzellen (Thekazellen) exprimiert wird, ist in den Östradiol-produzierenden Granulosazellen eine starke Expression von ER β vorhanden. Aufgrund der verschiedenen Zellverteilung von ER α und ER β im ovariellen Follikel ist damit zu rechnen, daß die Interaktion eines Liganden mit ER α bzw. ER β zu unterschiedlichen zellulären Antworten führen wird. Daß ER α und ER β funktionell unterschiedlich sind wurde kürzlich bestätigt durch die erfolgreiche Erzeugung von ER α und ER β knockout Mäusen (Couse et al. (1999), Endocrine Reviews 20: 358-417). Demzufolge ist ER α maßgeblich beteiligt in der Funktion des Uterus, der Brustdrüse, der Steuerung der sexual-endokrinen Achse, wogegen ER β überwiegend in die Vorgänge der ovariellen Physiologie einbezogen ist, insbesondere der Follikulogenese und der Ovulation.

Ein weiteres Organsystem mit hoher ER β -Expression ist der Testis (Mosselmann et al. 1996 Febs Lett 392 49-53) einschließlich der Spermatiden (Shugrue et al. 1998, Steroids 63: 498-504). Daß ER β im männlichen Tier funktionell ist, ergibt sich auch durch Untersuchungen an ER α - (ERKO) bzw. ER β -(β ERKO)-Knockout-Mäusen: Männliche ERKO-Mäuse (Hess RA et al. 1997, Nature 390: 509-512) weisen deutliche Fertilitätsstörungen auf. Hierdurch wird die wichtige Funktion von Estrogenen hinsichtlich Aufrechterhaltung von Testisfunktion bezüglich der Fertilität belegt.

ER α und ER β haben signifikant unterschiedliche Aminosäure-sequenzen in ihrer Liganden-bindungs- und Transaktivierungs-Domäne. Dies legt nahe, daß (1) ER Subtypen mit unterschiedlicher Affinität ihre Liganden binden und (2) daß Liganden

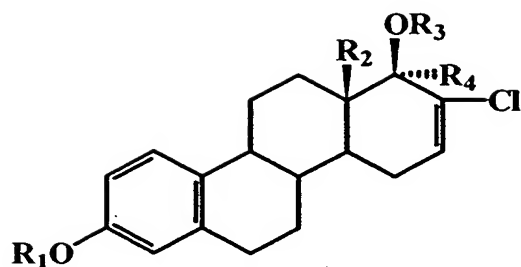
unterschiedliches agonistisches und/oder antagonistisches Potential über die beiden Rezeptorsubtypen entfalten können.

Patentanmeldungen WO 00/47603, WO 00/63228, PCT/EP00/10804, DE 100 19167.3, US 60/207,370 sowie Publikationen (Sun et al. (1999), Endocrinology 140: 800-804; Stauffer et al. (2000), J Comb Chem 2: 318 – 329) zeigten kürzlich, daß steroidale und nichtsteroidale Liganden mit hoher Affinität an ER α und ER β gefunden wurden. Einige Verbindungen waren beachtlich stärkere Agonisten/Antagonisten am ER α , wogegen andere Verbindungen stärkere Agonisten/Antagonisten am ER β waren.

In der WO 00/31112 werden neue steroidale Verbindungen basierend auf dem Grundkörper des, in 8-Position unsubstituierten, Estradiols beschrieben, die in 11 β -Position einen Kohlenwasserstoffrest tragen, der eine einzelne lineare Kette mit einer Länge von 5 bis 9 Kohlenstoffatomen enthält. Diese Verbindungen haben ein ER α -agonistisches/ER β -antagonistisches Wirkprofil. Aufgrund dieses gemischten Estrogenrezeptor-Profiles sind diese Verbindungen als verbesserte Estrogene für die Behandlung von Estrogen-bedingten Störungen und zur Kontrazeption zusammen mit einem Gestagen geeignet.

Aufgabe der vorliegenden Erfindung ist es deshalb, Verbindungen bereitzustellen, die in vitro eine Dissoziation hinsichtlich Bindung an Estrogenrezeptorpräparationen von Rattenprostata und Rattenuterus aufweisen und in vivo durch ihre präferentielle Wirkung am Ovar eine kontrazeptive Wirkung entfalten ohne andere Östrogen-sensitiven Organe wie z.B. den Uterus oder die Leber zu beeinflussen. Ferner sollen diese Verbindungen verwendet werden zur Kontrazeption beim Mann sowie zur Behandlung von gutartigen oder bösartigen proliferativen Erkrankungen des Ovars.

Diese Aufgabe wird gelöst durch die Bereitstellung der 17-Chlor-D-Homosteroide der allgemeinen Formel I



(I)

worin

R_1 ein Wasserstoffatom oder einen C_{1-6} Alkanoyl- oder Benzoylrest,
 R_2 eine C_{1-6} Alkylgruppe,
 R_3 ein Wasserstoffatom, einen C_{1-6} Alkyl-, C_{1-6} Alkanoyl- oder Benzoylrest und
 R_4 ein Wasserstoffatom, einen C_{1-6} Alkylrest, eine C_nF_{2n+1} Gruppe, in der $n=1, 2$ oder 3 ist, oder eine $C\equiv CR_5$ -Gruppe, in der R_5 ein Wasserstoffatom, ein C_{1-6} Alkylrest oder ein unsubstituierter oder substituierter Phenylrest ist,
 bedeuten.

Besonders bevorzugt sind

17-Chlor-17 α -ethinyl-17a,18a-dihomo-estra-1,3,5(10),16-tetraen-3,17a β -diol

17-Chlor-17 α -propinyl-17a,18a-dihomo-estra-1,3,5(10),16-tetraen-3,17a β -diol

17-Chlor-13 β -ethyl-17 α -methyl-17a,18a-dihomo-estra-1,3,5(10),16-tetraen-3,17a β -diol

17a β -Acetoxy-17-chlor-17 α -methyl-17a,18a-dihomo-estra-1,3,5(10),16-tetraen-3-ol

17-Chlor-17 α -(trifluormethyl)-17a,18a-dihomo-estra-1,3,5(10),16-tetraen-3,17a β -diol

17-Chlor-17 α -(pentafluorethyl)-17a,18a-dihomo-estra-1,3,5(10),16-tetraen-3,17 β -diol

17-Chlor-17 α -methyl-17 β -(methoxy)-17a,18a-dihomo-estra-1,3,5(10),16-tetraen-3-ol

17-Chlor-17a-homoestra-1,3,5(10),16-tetraen-3,17 β -diol

17-Chlor-17 α -(trifluormethyl)-17a-homoestra-1,3,5(10),16-tetraen-3,17 β -diol

17-Chlor-17 α -(pentafluorethyl)-17a-homoestra-1,3,5(10),16-tetraen-3,17 β -diol

17-Chlor-17 α -methyl-17a-homoestra-1,3,5(10),16-tetraen-3,17 β -diol

17-Chlor-17 α -ethyl-17a-homoestra-1,3,5(10),16-tetraen-3,17 β -diol

17-Chlor-17 α -ethinyl-17a-homoestra-1,3,5(10),16-tetraen-3,17 β -diol

17-Chlor-17 α -propinyl-17a-homoestra-1,3,5(10),16-tetraen-3,17 β -diol

17-Chlor-17 α -(trifluormethyl)-17a-homoestra-1,3,5(10),16-tetraen-3,17 β -diol-diacetat

17 β -Acetoxy-17-chlor-17 α -(trifluormethyl)-17a-homoestra-1,3,5(10),16-tetraen-3-ol

17-Chlor-17 β -methoxy-17 α -(trifluormethyl)-17a-homoestra-1,3,5(10),16-tetraen-3-ol

17-Chlor-(17 α)-21-(4'-methylsulfonylphenyl)-17a,18a-dihomogona-1,3,5(10),16-tetraen-20-yn-3,17 β -diol

17-Chlor-(17 α)-21-(phenyl)-13 β -methyl-17a-homogona-1,3,5(10),16-tetraen-20-yn-3,17 β -diol

17-Chlor-(17 α)-21-(4'-cyanophenyl)-13 β -methyl-17a-homogona-1,3,5(10),16-tetraen-20-yn-3,17a β -diol

17-Chlor-(17 α)-21-(4'-acetylaminophenyl)-13 β -methyl-17a-homogona-1,3,5(10),16-tetraen-20-yn-3,17a β -diol

17-Chlor-(17 α)-21-(4'-hydroxyphenyl)-13 β -methyl-17a-homogona-1,3,5(10),16-tetraen-20-yn-3,17a β -diol

Bei dem C₁-C₆-Alkanoylrest innerhalb von R¹ und R³ handelt es sich beispielsweise um einen Acetyl-, Propionyl-, Butyryl-, Isobutyryl-, Valeryl- oder Pivaloylrest.

Vertreter für die C₁-C₆-Alkylreste innerhalb von R¹, R², R³, R⁴ und R⁵ sind beispielsweise Methyl, Ethyl, Propyl, Isopropyl, Butyl, Isobutyl, tert.-Butyl, Pentyl, Isopentyl, Neopentyl und Hexyl.

Perfluorierte Alkylgruppen C_nF_{2n+1} mit n = 1, 2, 3 sind Trifluormethyl, Pentafluorethyl und Heptafluorpropyl.

Als Substituenten für den Phenylrest R⁵ seien zum Beispiel ein Methyl-, Ethyl-, Trifluormethyl-, Pentafluorethyl-, Trifluormethylthio-, Methoxy-, Ethoxy-, Nitro-, Cyano-, Halogen- (Fluor, Chlor, Brom, Iod), Hydroxy-, Amino-, Mono(C₁₋₈-alkyl)- oder Di(C₁₋₈-alkyl)amino, wobei beide Alkylgruppen identisch oder verschieden sind, Di(aralkyl)amino, wobei beide Aralkylgruppen identisch oder verschieden sind, erwähnt.

Die neuen Verbindungen sind zur Hemmung der Follikulogenese und der Ovulation, zur männlichen Kontrazeption und zur Behandlung von gutartigen und bösartigen proliferativen Erkrankungen des Ovars geeignet.

Anders als bei dem üblicherweise für die hormonelle Kontrazeption verwendeten Estrogen Ethinylestradiol oder auch bei den nach der WO 00/31112 für die

Kontrazeption zu verwendenden Verbindungen können die erfindungsgemäßen Verbindungen der allgemeinen Formel I alleine, d. h. ohne die zusätzliche Gabe von Gestagenen zur Kontrazeption verwendet werden..

Die erfindungsgemäßen Ester der Verbindungen der allgemeinen Formel I können als Prodrugs Vorteile gegenüber den unveresterten Wirkstoffen hinsichtlich ihres Applikationsmodus, ihrer Wirkungsart, Wirkungsstärke und Wirkungsdauer aufweisen.

In der vorliegenden Patentanmeldung werden 17-Chlor-D-Homostroide zur Kontrazeption beschrieben, die in vitro Dissoziation hinsichtlich Bindung an Estrogenrezeptorpräparationen von Rattenprostata und Rattenuterus und die in vivo vorzugsweise eine Hemmung der Follikulogenese und der Ovulation aufweisen: über einen breiten Dosisbereich wirken diese Substanzen kontrazeptiv ohne andere Östrogen-sensitiven Organe wie z.B. den Uterus oder die Leber zu beeinflussen. Darüberhinaus können diese Verbindungen zur männlichen Kontrazeption und zur Behandlung von gutartigen oder bösartigen proliferativen Erkrankungen des Ovars eingesetzt werden.

Die Erfindung betrifft auch pharmazeutische Präparate, die mindestens eine Verbindung der allgemeinen Formel I enthalten zur Herstellung von Arzneimitteln, insbesondere für die nachstehenden Indikationen.

Die Verbindungen können, sowohl nach oraler als auch parenteraler Gabe, für die folgenden Indikationen eingesetzt werden.

Die im vorliegenden Patent beschriebenen neuartigen selektiven Estrogene können als Einzelkomponente in pharmazeutischen Zubereitungen oder in Kombination insbesondere mit GnRH-antagonisten, Progesteronrezeptor-antagonisten, Mesoprogestinen oder Gestagenen oder gewebe selektiver Gestagene (Wirkung über Typ A/B-Form) eingesetzt werden.

Die Substanzen und die sie enthaltenden Pharmaka sind besonders geeignet für die ovarielle Kontrazeption, für die Behandlung von gutartigen oder bösartigen proliferativen Erkrankungen des Ovars, wie z.B. Ovarialcarcinome, Granulosazelltumore.

Außerdem können die Verbindungen zur Behandlung männlicher Fertilitätsstörungen und prostatischer Erkrankungen Verwendung finden.

Die zu verabreichende Menge einer Verbindung der allgemeinen Formel I schwankt innerhalb eines weiten Bereichs und kann jede wirksame Menge abdecken. In Abhängigkeit des zu behandelnden Zustands und der Art der Verabreichung kann die Menge der verabreichten Verbindung 0,01 µg/kg - 100 mg/kg Körpergewicht, vorzugsweise 0,04 µg/kg - 1 mg/kg Körpergewicht, je Tag betragen.

Beim Menschen entspricht dies einer Dosis von 0,8 µg bis 8 g, vorzugsweise 3,2 µg bis 80 mg, täglich.

Eine Dosiseinheit enthält erfindungsgemäß 1,6 µg bis 2000 mg einer oder mehrerer Verbindungen der allgemeinen Formel I.

Die erfindungsgemäßen Verbindungen sind zur Herstellung pharmazeutischer Zusammensetzungen und Zubereitungen geeignet. Die pharmazeutischen Zusammensetzungen beziehungsweise Arzneimittel enthalten als Wirkstoff einen oder mehrere der erfindungsgemäßen Verbindungen oder deren Säureadditionssalze, gegebenenfalls in Mischung mit anderen pharmakologisch beziehungsweise pharmazeutisch wirksamen Stoffen. Die Herstellung der Arzneimittel erfolgt in bekannter Weise, wobei die bekannten und üblichen pharmazeutischen Hilfsstoffe sowie sonstige übliche Träger- und Verdünnungsmittel verwendet werden können.

Als derartige Träger- und Hilfsstoffe kommen zum Beispiel solche infrage, die in folgenden Literaturstellen als Hilfsstoffe für Pharmazie, Kosmetik und angrenzende Gebiete empfohlen beziehungsweise angegeben sind: Ullmans Encyklopädie der technischen Chemie, Band 4 (1953), Seite 1 bis 39; Journal of Pharmaceutical

Sciences, Band 52 (1963), Seite 918 ff., H. v. Czetsch-Lindenwald, Hilfsstoffe für Pharmazie und angrenzende Gebiete; Pharm. Ind., Heft 2, 1961, Seite 72 u. ff.: Dr. H. P. Fiedler, Lexikon der Hilfsstoffe für Pharmazie, Kosmetik und angrenzende Gebiete, Cantor KG. Aulendorf in Württemberg 1971.

Die Verbindungen können oral oder parenteral, beispielsweise intraperitoneal, intramuskulär, subkutan oder perkutan verabreicht werden. Die Verbindungen können auch in das Gewebe implantiert werden.

Zur oralen Verabreichung kommen Kapseln, Pillen, Tabletten, Dragees usw. infrage. Die Dosierungseinheiten können neben dem Wirkstoff einen pharmazeutisch verträglichen Träger, wie zum Beispiel Stärke, Zucker, Sorbit, Gelatine, Gleitmittel, Kieselsäure, Talkum usw., enthalten.

Zur parenteralen Verabreichung können die Wirkstoffe in einem physiologisch verträglichen Verdünnungsmittel gelöst oder suspendiert sein. Als Verdünnungsmittel werden sehr häufig Öle mit oder ohne Zusatz eines Lösungsvermittlers, eines oberflächenaktiven Mittels, eines Suspendier- oder Emulgiermittels verwendet. Beispiele für verwendete Öle sind Olivenöl, Erdnußöl, Baumwollsamensöl, Sojabohnenöl, Rizinusöl und Sesamöl.

Die Verbindungen lassen sich auch in Form einer Depotinjektion oder eines Implantatpräparats anwenden, die so formuliert sein können, daß eine verzögerte Wirkstoff-Freigabe ermöglicht wird.

Implantate können als inerte Materialien zum Beispiel biologisch abbaubare Polymere enthalten oder synthetische Silikone wie zum Beispiel Silikonkautschuk.

Die Wirkstoffe können außerdem zur perkutanen Applikation zum Beispiel in ein Pflaster eingearbeitet werden.

Für die Herstellung von mit aktiven Verbindungen der allgemeinen Formel I beladenen Intravaginal- (z.B. Vaginalringe) oder Intrauterinsystemen (z.B. Pessare, Spiralen, IUSs, Mirena®) für die lokale Verabreichung eignen sich verschiedene Polymere wie zum Beispiel Silikonpolymere, Ethylenvinylacetat, Polyethylen oder Polypropylen.

Um eine bessere Bioverfügbarkeit des Wirkstoffes zu erreichen, können die Verbindungen auch als Cyclodextrinclathrate formuliert werden. Hierzu werden die

Verbindungen mit α -, β - oder γ -Cyclodextrin oder Derivaten von diesen umgesetzt (PCT/EP95/02656).

Erfindungsgemäß können die Verbindungen der allgemeinen Formel I auch mit Liposomen verkapselt werden.

Methoden

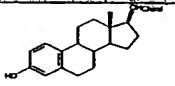
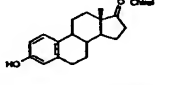
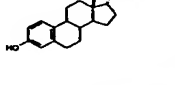
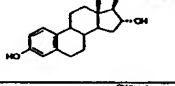
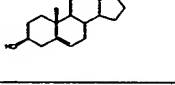
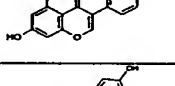
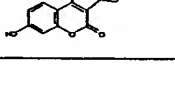
Estrogenrezeptorbindungsstudien

Die Bindungsaffinität der neuen selektiven Estrogene wurde in Konkurrenzexperimenten unter Verwendung von ^3H -Estradiol als Ligand an Estrogenrezeptorpräparationen von Rattenprostata und Rattenuterus getestet. Die Präparation des Prostatacytosols und der Estrogenrezeptortest mit dem Prostatacytosol wurde, wie von Testas et al. (1981) beschrieben, durchgeführt (Testas J. et al., 1981, Endocrinology 109: 1287-1289).

Die Präparation von Rattenuteruscytosol, sowie der Rezeptortest mit dem ER-haltigen Cytosol wurden prinzipiell durchgeführt wie von Stack und Gorski, 1985, beschrieben (Stack, Gorski 1985, Endocrinology 117, 2024-2032) mit einigen Modifikationen wie bei Fuhrmann et al. (1995) beschrieben (Fuhrmann U. et al. 1995, Contraception 51: 45-52).

Die im vorliegenden Schutzrecht beschriebenen Substanzen weisen höhere Bindungsaffinität zu Estrogenrezeptor aus Rattenprostata als zu Estrogenrezeptor aus Rattenuterus auf. Dabei wird davon ausgegangen, daß ER β gegenüber ER α in der Rattenprostata, in Rattenuterus ER α gegenüber ER β überwiegt. Tabelle 1 zeigt, daß das Verhältnis der Bindung an Prostata- und Uterusrezeptor qualitativ mit dem Quotient der relativen Bindungsaffinität (RBA) an humanen ER β und ER α von Ratte (nach Kuiper et al. (1996), Endocrinology 138: 863-870) übereinstimmt (Tabelle 1).

Tabelle 1

| Estrogen | Struktur | hER α RBA* | hER β RBA* | ER β / ER α | Rat uterus ER(RBA) | Rat prost- ER(RBA) | prost-ER/ uterusER |
|--|---|----------------------|---------------------|-----------------------------|------------------------------|-----------------------|-----------------------|
| Estradiol |  | 100 | 100 | 1 | 100 | 100 | 1 |
| Estron |  | 60 | 37 | 0.6 | 3 | 2 | 0.8 |
| 17α-Estradiol |  | 58 | 11 | 0.2 | 2.4 | 1.3 | 0.5 |
| Estriol |  | 14 | 21 | 1.5 | 4 | 20 | 5 |
| 5-Androsten-diol |  | 6 | 17 | 3 | 0.1 | 5 | 50 |
| Genistein |  | 5 | 36 | 7 | 0.1 | 10 | 100 |
| Coumestrol |  | 94 | 185 | 2 | 1.3 | 24 | 18 |

*: zitiert aus : Kuiper et al. (1996), Endocrinology 138: 863-870

Untersuchungsbeispiele zur kontrazeptiven Wirkung

Untersuchung der frühen Follikulogenese:

Immature weibliche Ratten werden hypophysektomiert. Dieser Tag wird als Tag 0 definiert. Von Tag 1 - Tag 4 erfolgt Behandlung, subcutan oder/und oral, mit der Wirksubstanz in Kombination mit 17β -Östradiol. Autopsie der Tiere erfolgt am Tag 5. Das Ovar wird entnommen und makroskopisch, z.B. Organgewichte, und mikroskopisch, z.B. histologische Beurteilung der Follikel, sog. Follikelstaging, analysiert.

Untersuchung der späten Follikulogenese /Ovulation

Immature weibliche Ratten werden hypophysektomiert. Dieser Tag wird als Tag 0 definiert. Von Tag 1 - Tag 4 erfolgt Behandlung, subcutan oder/und oral, mit der Wirksubstanz in Kombination mit 17β -Östradiol. Am Tag 5 erfolgt eine subkutane Injektion mit PMSG (pregnant mare serum gonadotropin). Am Tag 7 wird hCG intraperitoneal zur Auslösung der Ovulation appliziert. Am Tag 8 wird das Ovar entnommen und makroskopisch (z.B. Ovargewichte) und/oder mikroskopisch (z.B. histologische Beurteilung der Follikel, sogenanntes Follikelstaging) analysiert. Die Tuben werden gespült und auf die Anwesenheit von Eizellen untersucht.

Untersuchung der Ovulation

Immature weibliche Ratten werden im Alter von 23 Tagen subkutan mit PMSG (pregnant mare serum gonadotropin) behandelt (Tag 1). Am selben Tag, sowie 24 und 48 Stunden später erhalten die Tiere die Wirksubstanz subkutan oder oral appliziert. 54 Stunden nach der PMSG Injektion erhalten die Tiere zur Auslösung der Ovulation eine intraperitoneale Injektion von hCG. Autopsie erfolgt 16 Stunden nach der hCG-Gabe. Die Tuben werden gespült und auf die Anwesenheit von Eizellen hin untersucht.

Eine andere Möglichkeit, die dissoziierte Estrogenwirkung der erfindungsgemäßen Substanzen in vivo nachzuweisen, besteht darin, nach Einmalapplikation der Substanzen bei Ratten Effekte auf die Expression von 5HT_{2a}-Rezeptor- und

Serotonintransporter-Protein- und mRNA-Level in ERß-reichen Gehimarealen zuvermessen. Vergleichend zum Effekt auf Serotoninrezeptor- und Transporterexpression wird der Effekt auf die LH-Sekretion gemessen. Substanzen mit höherer Bindung an den Rattenprosta- verglichen mit dem Rattenuterusestrogenrezeptor sind potenter hinsichtlich Erhöhung der Expression von Serotoninrezeptor- und transporter, im Vergleich zu ihrem positiven Effekt auf die LH-Ausschüttung. Die Dichte von Serotoninrezeptor und -Transporter wird an Gehirnschnitten mittels radioaktiver Liganden, die entsprechende mRNA mittels in situ Hybridisierung bestimmt. Die Methode ist in der Literatur beschrieben: G. Fink & B.E.H. Sumner 1996 Nature 383:306; B. E.H. Sumner et al. 1999 Molecular Brain Research, in press.

Die erfindungsgemäßen Verbindungen der allgemeinen Formel I werden wie in den Beispielen sowie den Ansprüchen 3 bis 6 beschrieben hergestellt. Durch analoge Vorgehensweise unter Verwendung homologer Reagenzien zu den in den Beispielen beschriebenen Reagenzien lassen sich die weiteren Verbindungen der allgemeinen Formel I erhalten.

Die nachfolgenden Beispiele dienen der Erläuterung der Erfindung:

Beispiel 1

17-Chlor-17a,18a-dihomo-estra-1,3,5(10),16-tetraen-20-yn-3,17a β -diol

742 mg 17-Chlor-3-methoxy-17a,18a-dihomo-estra-1,3,5(10),16-tetraen-20-yn-17a β -ol werden in 16 ml trockenem Dichlormethan gelöst und unter Argon auf -78°C gekühlt. Nach Zugabe von 2,2 g Tetrabutylammoniumiodid und 6 ml einer Lösung von 1 M Bortrichlorid in Dichlormethan wird noch 30 min im Kältebad gerührt. Man lässt dann den Ansatz auf Raumtemperatur kommen und rührt 1 Stunde nach. Zur Zersetzung wird auf 0°C gekühlt, die Lösung in Wasser eingerührt und mit Dichlormethan extrahiert. Nach der Phasentrennung wird die organische Phase mit gesättigter wässriger Natirumbicarbonat-Lösung und mit Wasser gewaschen, mit Na_2SO_4 getrocknet, abfiltriert und unter Vakuum eingeeengt. Das Rohprodukt wird mittels präparativer Schichtchromatographie mit dem Laufmittelgemisch Toluol / Aceton 20:1 gereinigt. Man erhält 264 mg 17-Chlor-17a α -ethinyl-17a,18a-dihomo-estra-1,3,5(10),16-tetraen-3,17a β -diol.

Schmp.: 81 bis 88°C (*tert.*-Butylmethylether / n-Hexan)

α_D : -144° (CHCl_3)

$^1\text{H-NMR}$:

GC/MS: 99,8 % F für $\text{M}^+ + 1 = 356$

Herstellung der Ausgangsverbindung

Stufe A

3-Methoxy-18a-homoestra-1,3,5(10)-trien-17-on

25,4 g 3-Methoxy-18a-homoestra-1,3,5(10)-trien-17 β -ol werden in 500 ml Aceton gelöst und auf 10°C abgekühlt. Bei 10°C wird solange Jones - Reagenz. zugetropft, bis eine deutliche Gelbfärbung bestehen bleibt. Man gibt unter Eiskühlung 15 ml

Isopropanol zur Zersetzung des überschüssigen Reagenzes zu und rührt 1,5 l Wasser ein, wobei das Steroid ausfällt. Man saugt die Kristalle ab, wäscht mit Wasser neutral und trocknet. Das Rohprodukt (22,7 g) wird durch Umkristallisation aus Essigester gereinigt. Man erhält 17 g 3-Methoxy-18a-homoestra-1,3,5(10)-trien-17-on.

Stufe B

17-Chlor-3-methoxy-17a,18a-dihomo-estra-1,3,5(10),16-tetraen-17a-on

20,3 g 3-Methoxy-18a-homoestra-1,3,5(10)-trien-17-on werden in 400 ml Tetrahydrofuran gelöst und unter Argon auf -78°C gekühlt. Innerhalb von 30 Minuten tropft man 55 ml einer 2 M Lösung von Lithiumdiisopropylamid in THF/Heptan/Ethylbenzol ein und rührt 1,5 Stunden nach. Nun werden 15,5 ml Chlortrimethylsilan zugetropft und nach weiteren 30 min rühren bei -78°C lässt man den Ansatz auf Raumtemperatur kommen. Nach 2 Stunden werden 300 ml gesättigte Natriumhydrogencarbonatlösung und Essigester zugegeben. Nach der Phasentrennung wird die organische Phase mit Natriumchloridlösung gewaschen über Natriumsulfat getrocknet und unter Vakuum eingeeengt. Das auf diese Weise erhaltene gelbe Harz (22,7 g) an 17 β -Trimethylsilyloxy-18a-homoestra-1,3,5(10),16-tetraen-3-methylether wird als Rohprodukt für die weitere Reaktion eingesetzt. Das Rohprodukt wird in 350 ml Chloroform gelöst und unter Argon mit 60 g Natriumtrichloracetat und 1,5 g Benzyltriethylammoniumchlorid versetzt und 4 Stunden unter Rückfluss gekocht. Zur Aufarbeitung wird die Reaktionslösung abgekühlt und nacheinander je 2 x mit gesättigter Natriumhydrogencarbonatlösung, gesättigter Ammoniumchloridlösung und mit gesättigter Natriumchloridlösung gewaschen. Es wird über Natriumsulfat getrocknet und unter Vakuum das Lösungsmittel verdampft. Man erhält 30,3 g eines dunkelbraunen Harzes, das mittels Flash-Chromatographie und Umkristallisation aus Aceton / n-Hexan gereinigt wird. Ausbeute: 7,8 g 17-Chlor-3-methoxy-17a,18a-dihomoestra-1,3,5(10),16-tetraen-17a-on.

Schmelzpunkt: 156 bis 160 °C (Aceton / n-Hexan)

α_D : - 44° (CHCl₃)

¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃, TMS): 0.71 (t, 3H, H-20), 2.86 (m, 2H, CH₂), 3.77 (s, 3H, OCH₃), 6.6, 6.71, 7.0 (3 H, aromat.-CH), 7.20 (d, 8,4 Hz, H-16).

LC/MS: 345 (M⁺ + 1) 99,7 % F

Literatur: u.a. W. Schwede et al. Steroids 59, 176-180 (1994)

Stufe C

17-Chlor-13 β -ethyl-3-methoxy-18,19-dinor-17a-homo-pregna-1,3-5(10),16-tetraen-20-yn-17a β -ol

1,38 g 17-Chlor-13 β -ethyl-3-methoxy-17a-homo-gona-1,3,5(10),16-tetraen-17a-on werden in 40 ml THF gelöst und unter Argon auf - 40°C gekühlt. Innerhalb von 30 min werden 60 ml einer 0,5 M Lösung von Ethynylmagnesiumbromidlösung in THF eingetropft. Anschließend lässt man die Reaktionslösung auf Zimmertemperatur kommen und rührt 5,5 Stunden nach. Zur Aufarbeitung wird auf -5°C abgekühlt und langsam 60 ml wässrige NaCl-Lösung eingetropft und anschließend 30 ml Dichlormethan zugesetzt. Nach Phasentrennung wird mit Wasser neutral gewaschen, mit Natriumsulfat getrocknet, abfiltriert und unter Vakuum eingeengt. Man erhält 1,64 g braunen Schaum, der mittels Flash-Chromatographie mit Toluol gereinigt und aus Aceton umkristallisiert wird. Ausbeute: 968 mg 17-Chlor-13 β -ethyl-3-methoxy-18,19-dinor-17a-homo-pregna-1,3-5(10),16-tetraen-20-yn-17a β -ol

Schmp.: 91 bis 93 °C (Aceton)

$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, CDCl_3 , TMS): 1.02 (t; 3H, CH_2CH_3), 2,85 (m, 2H, CH_2CH_3), 3,77 (s, 3H, OCH_3), 5.91, 6.62, 7.72 (3H, C-H aromat.), 7.23 (d, 1 H, H-16).

LC/MS: 345 ($\text{M}^+ + 1$) 100 % F

Beispiel 2

17-Chlor-13 β -ethyl-18,19-dinor-21-methyl-17a-homo-pregna-1,3-5(10),16-tetraen-20-yn-3,17a β -diol

Herstellung analog Beispiel 1 aus 17-Chlor-13 β -ethyl-3-methoxy-18,19-dinor-21-methyl-17a-homo-pregna-1,3-5(10),16-tetraen-20-yn-17a β -ol

Schmelzpunkt: 99 bis 104 °C (Aceton/n-Hexan)

α_D : - 140° (CHCl_3)

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3 , TMS): 1.01 (t, 3H, H-20), 1.90 (s, 3H, $\text{C}\equiv\text{CCH}_3$), 2.52 (s, 1H, OH), 2.81 (m, 2H, CH_2), 4.97 (br. S, 1H, OH), 5.85, 6.55, 6.64 (3 H, CH-aromat.), 7.17 (d, 8,4 Hz, H-16).

LC/MS: 371 ($\text{M}^+ + 1$) 99,2 % F

Herstellung der Ausgangsverbindung

Die Herstellung erfolgt analog Beispiel 1 Stufe C aus 1,38 g 17-Chlor-3-methoxy-17a,18a-dihomoestra-1,3,5(10),16-tetraen-17a-on mit 40 ml einer 0,5 M Lösung von 1-Propinylmagnesiumbromid in THF. Der als Rohprodukt anfallende hellgelbe Schaum wird durch Flashchromatographie gereinigt und aus tert.-Butylmethylether

/n-Hexan umkristallisiert. Ausbeute 1,07 g 17-Chlor-13 β -ethyl-3-methoxy-18,19-dinor-21-methyl-17 α -homo-pregna-1,3,5(10),16-tetraen-20-yn-17 $\alpha\beta$ -ol, das direkt in die nächste Stufe (Etherspaltung) eingesetzt wird.

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃, TMS): 1.01 (t, 3H, H-20), 1.90 (s, 3H, Propinyl), 2.51 (s, 1H, OH), 2.84 (m, 2H, CH₂), 3.77 (s, 3H, OCH₃), 5.85, 6.62, 6.72 (3 H, aromat.-CH), 7.23 (d, 8,8 Hz, H-16).

Beispiel 3

17 α -pentafluorethyl-17-chlor-17 α -homo-estra-1,3,5(10),16-tetraen-3,17 $\alpha\beta$ -diol

2 g 3-Methoxy-17-chlor-17 α -homo-estra-1,3,5(10),16-tetraen-17 α -on werden in 60 ml Diethylether gelöst und unter Rühren auf -78°C gekühlt. Es werden 4,8 g Pentafluorethyljodid zugegeben, dann werden langsam 7,6 ml einer 1,5 m Lösung von Methyllithium-Lithiumbromidkomplex in Diethylether zugetropft. Es wird 2 Stunden bei -78°C gerührt und dann auf 200 ml gesättigte Natriumhydrogencarbonatlösung gegossen. Es wird mit Essigsäureethylester extrahiert, getrocknet und eingeeengt. Man erhält 3-Methoxy-17 α -pentafluorethyl-17-chlor-17 α -homo-estra-1,3,5(10),16-tetraen-17 $\alpha\beta$ -ol, welches in 50 ml Dichlormethan bei -70°C mit 4 g Tetrabutylammoniumjodid und 12 ml 1m Bortrichloridlösung in Dichlormethan umgesetzt wird. Nach 1 Stunde bei -70°C lässt man auf 20 °C erwärmen und gibt 40 ml Wasser zu. Nach extraktiver Aufarbeitung wird zur Reinigung an Kieselgel chromatografiert und aus Aceton kristallisiert. Man erhält 17 α -pentafluorethyl-17-chlor-17 α -homo-estra-1,3,5(10),16-tetraen-3,17 $\alpha\beta$ -diol

¹H-NMR (CDCl₃): 1.02 (s, 3H, H-18), 6.24(m, 1H, H-16) 6.56(d, 1H, J=2.7Hz, H-4) 6.64(dd,1H, J=8.2, 2.7 Hz, H-2) 7.14(d,1H, J= 8.6 Hz, H-1)

¹⁹F-NMR : -78.4 (3F, CF₃), -113 (2F, CF₂)

Beispiel 4

17 α -pentafluorethyl-17-chlor-17a,18a-dihomo-estra-1,3,5(10),16-tetraen-3,17a β -diol

Die Verbindung wird analog wie voranstehend aus 3-Methoxy-17-chlor-17a,18a-dihomo-estra-1,3,5(10),16-tetraen-17a-on hergestellt.

¹H-NMR (CDCl₃): 1.04 (t, 3H, J=7 Hz, CH₂-CH₃), 6.27(m, 1H, H-16) 6.56(d, 1H, J=2.7Hz, H-4) 6.64(dd, 1H, J=8.2, 2.7 Hz, H-2) 7.15(d, 1H, J= 8.6 Hz, H-1)

¹⁹F-NMR : -78.3 (3F, CF₃), -112.9 (2F, CF₂)

Beispiel 5

17-Chlor-17 α -(trifluormethyl)-17a-homoestra-1,3,5(10),16-tetraen-3,17a β -diol
(Beispiel 5, J 1422)

1,9 g 17-Chlor-17 α -(trifluormethyl)-17a β -(trimethylsiloxy)-17a-homoestra-1,3,5(10),16-tetraen-3-ol werden in einer Teflonflasche in 15 ml Tetrahydrofuran gelöst. Nach Zugabe von 4 ml Flusssäure (48 %ig) wird die Flasche fest verschlossen. Man erwärmt 25 Stunden auf 50°C.

Zur Aufarbeitung wird das Reaktionsgemisch in eine Lösung aus 800 ml 10%-iger Ammoniumchloridlösung mit 5 g Calciumgluconat-Monohydrat gegeben und 30 min bei Raumtemperatur gerührt. Durch Extraktion mit Essigester und übliche Aufarbeitung (siehe Beispiel 1) werden 1,74 g Rohprodukt isoliert, das mittels Flash-Chromatographie an Kieselgel MERCK mit einem Dichlormethan / n-Hexan-Gradienten gereinigt und aus Aceton / n-Hexan umkristallisiert wird. Ausbeute: 1,36 g 17-Chlor-17 α -(trifluormethyl) 17a-homoestra-1,3,5(10),16-tetraen-3,17a β -diol

Schmelzpunkt.: 187 bis 192 °C (Aceton/n-Hexan)

α_D : -15 ° (CHCl₃)

$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, CDCl_3 , TMS): 1.03 (s, 3H, H-18), 2.81 (m, 2H, CH_2), 3.04 (s, 1H, OH), 4.97 (s, 1H, OH), 6.23 (t, 1H, H-16), 6.55 (d, 1H, C-4 arom.CH), 6.63 (dd, 1H, C-2 arom.CH), 7.14 (d, 8,2 Hz, C-1 arom. CH).

HPLC: 98,9 % F bei 280 nm

GC/MS: 387 ($\text{M}^+ + 1$) 100 % F

Herstellung der Ausgangsverbindungen

Stufe A

● 17-Chlor-3-methoxy-17a-homoestra-1,3,5(10,16-tetraen-17-on

30 g 3-Methoxy-estra-1,3,5(10)-trien-17-on werden wie unter Beispiel 1 Stufe B mit Lithiumdiisopropylamid und Trimethylchlorsilan in den 17 β -Trimethylsilyloxy-estra,1,3,5(19,16-tetraen-3-methylether überführt. Das dabei erhaltene Rohprodukt (44,6 g) wird direkt in die nächste Stufe eingesetzt.

$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, CDCl_3 , TMS): 0.21 (s, 9H, $\text{Si}(\text{CH}_3)_3$), 0.86 (s, 3H, H-18), 2.84 (m, 2H, CH_2), 3.78 (s, 3H, OCH_3), 4.52 (t, 1H, H-16), 6.23 (t, 1H, H-16), 6.64 (d, 1H, C-4 arom.CH), 6.70 (dd, 1H, C-2 arom.CH), 7.20 (d, 8,2 Hz, C-1 arom. CH).

● Zu 37,6 g 17 β -Trimethylsilyloxy-estra,1,3,5(19,16-tetraen-3-methylether in 540 ml Chloroform werden unter Argon 125 g Natriumtrichloracetat und 2,9 g Benzyltriethylammoniumchlorid zugegeben und die Mischung 6 Stunden unter Rückfluss erhitzt. Der Ansatz wird durch Zugabe von wässriger Natriumhydrogenkarbonatlösung zersetzt und üblich aufgearbeitet. Man isoliert 52,3 g eines dunkelbraunen Harzes, das mittels Flash-Chromatographie mit einem Toluol/Dichlormethan-Gradienten und durch Umkristallisation aus Aceton / n-Hexan gereinigt wird. Ausbeute: 14,2g 17-Chlor-3-methoxy-17a-homoestra-1,3,5(10),16-tetraen-17-on.

Schmelzpunkt: 166 bis 169 °C (Aceton)

α_D : -18 ° (CHCl₃)

¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃, TMS): 1.07 (s, 3H, H-18), 2.84 (m, 2H, CH₂), 3.76 (s, 3H, OCH₃), 6.61 (d, 1H, H-16), 6.72 (d, 1H, C-4 arom.CH), 7.05 (dd, 1H, C-2 arom.CH), 7.20 (d, 6,6 Hz, C-1 arom. CH).

HPLC : 98,4 F % bei 220 nm

Stufe B

17-Chlor-17 α -(trifluormethyl)-17 β -(trimethylsiloxy)-17a-homoestra-1,3,5(10),16-tetraen-3-methylether

1g 17-Chlor-3-methoxy-17a-homoestra-1,3,5(10),16-tetraen-17-on wird in 30 ml abs. THF gelöst, mit 1g Molsieb 3A versetzt und 30 Minuten unter Argon gerührt. Man kühlt auf 0°C ab, tropft 1,5 ml Trifluormethyltrimethylsilan zu und rührt 10 Minuten nach. Die Reaktionslösung wird durch Zugabe von 10 ml 1N HCl zersetzt. Nach der Aufarbeitung werden 1,05 g 17-Chlor-17 α -(trifluormethyl)-17 β -(trimethylsiloxy)-17a-homoestra-1,3,5(10),16-tetraen-3-methylether erhalten.

Schmelzpunkt: 118 bis 120 °C (MeOH)

α_D : -4 ° (CHCl₃)

¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃, TMS): 0.24 [s, 9H, Si(CH₃)₃], 0.96 (s, 3H, H-18), 2.86 (m, 2H, CH₂), 3.78 (s, 3H, OCH₃), 6.19 (t, 1H, H-16), 6.63 (d, 1H, C-4 arom.CH), 6,74 (dd, 1H, C-2 arom.CH), 7.21 (d, 6,6 Hz, C-1 arom. CH).

HPLC : 98,7 F % bei 278 nm, LC/MS: 471 (M⁺ +1) 99,7 % F

Lit.: Krishnamurti Bellew Prakash J. Org. Chem. 56, 984 (1991)

Stufe C

17-Chlor-17 α -(trifluormethyl)-17 β -(trimethylsiloxy)-17a-homoestra-1,3,5(10),16-tetraen-3-ol

3 g 17-Chlor-17 α -(trifluormethyl)-17 β -(trimethylsiloxy)-17a-homoestra-1,3,5(10),16-tetraen-3-methylether werden in 80 ml trockenem Toluol gelöst, auf -5°C gekühlt, mit 9 ml Diisobutylaluminiumhydrid (1M Toluol-Lösung) versetzt. Man lässt auf Raumtemperatur kommen und erhitzt anschließend 12 Stunden auf Siedetemperatur. Danach wird auf -20 °C abgekühlt, man tropft 14 ml Ethanol (95 % ig), danach 14 ml HCl (konz.) und 32 ml Wasser zu, extrahiert mit Essigester, wäscht die organische Phase neutral, trocknet über Natriumsulfat und engt die abfiltrierte Lösung unter Vakuum ein. Man erhält 3,1 g eines hellen Schaumes, der durch Flash-Chromatographie gereinigt und aus Methanol umkristallisiert wird.

Schmelzpunkt: 158 bis 161 °C (MeOH)

α_D : - 1 ° (CHCl₃)

¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃, TMS): 0.24 [s, 9H, Si(CH₃)₃], 0.96 (s, 3H, H-18), 2.82 (m, 2H, CH₂), 4.63 (s, 1H, OH), 6.19 (t, 1H, J=3,3 Hz, H-16), 6.56 (d, 1H, J=2.7 Hz, C-4 arom.CH), 6,64 (dd, 1H, J= 2.7 und 8.4 Hz, C-2 arom.CH), 7.16 (d, 1H, J=8.4 Hz, C-1 CH-arom.).

HPLC : 99,9 F % bei 278 nm, GC/MS: 459 (M⁺ +1) 99,7 % F

Beispiel 6

17-Chlor-17 α -methyl-17a-homoestra-1,3,5(10),16-tetraen-3,17 β -diol (Beispiel 6, J 1851)

464 mg 17-Chlor-3-methoxy-17 α -methyl-17a-homoestra-1,3,5(10),16-tetraen-17 β -ol werden in 20 ml Toluol nach Beispiel 4 Stufe C mit Diisobutylaluminiumhydrid

gespalten. Man erhält 520 mg Rohprodukt als helle Kristalle, die mittels präparativer Schichtchromatographie mit dem Laufmittelgemisch Toluol / Methanol 5:1 gereinigt werden. Nach Umkristallisation aus Aceton / n-Hexan und aus Methanol werden 192 mg 17-Chlor-17 α -methyl-17a-homoestra-1,3,5(10),16-tetraen-3,17 β -diol erhalten

Schmelzpunkt: 207 bis 221 °C (MeOH)

α_D : -33 ° (CHCl₃)

¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃, TMS): 1.01 (s, 3H, H-18), 1.40 (s, 3H, H-20), 2.80 (m, 2H, CH₂), 5.37 (s, 1H, OH), 5.80 (m, 1H, H-16), 6.57 (d, 1H, J=2.7 Hz, C-4 arom.CH), 6.64 (dd, 1H, J= 2.7 und 8.4 Hz, C-2 arom.CH), 7.17 (d, 1H, J=8.4 Hz, C-1 arom. CH).

HPLC : 98,4 F % bei 281 nm, GC/MS: 333 (M⁺ +1) 99,1 % F

Herstellung der Ausgangsverbindung

Stufe A

17-Chlor-3-methoxy-17 α -methyl- 17a-homoestra-1,3,5(10),16-tetraen-17 β -ol

660 mg 17-Chlor-3-methoxy-17a-homoestra-1,3,5(10),16-tetraen-17a-on werden in 20 ml trockenem Tetrahydrofuran gelöst und unter Argon auf – 40°C abgekühlt . Anschließend werden 5 ml einer 3 M Lösung von Methylmagnesiumbromid in Diethylether eingetropft . Nach 5 min rühren im Kältebad lässt man den Ansatz auf Raumtemperatur kommen . Nach weiteren 1,5 Stunden Reaktionszeit ist eine vollständige Umsetzung erreicht. Der Ansatz auf 0°C abgekühlt. Es werden langsam 20ml wässrige gesättigte Ammoniumchloridlösung eingetropft und 15 min gerührt . Nach Zugabe von Dichlormethan werden die Phasen getrennt und die wässrige Phase wird nachextrahiert . Die organisch Phase wird neutral gewaschen, mit Natriumsulfat getrocknet und unter Vakuum verdampft. Man erhält 705 mg 17-Chlor-3-methoxy-17 α -methyl-17a-homoestra-1,3,5(10),16-tetraen-17 β -ol als hellen

Schaum, der mittels präparativer Schichtchromatographie gereinigt wird. Ausbeute: 380 mg helle Kristalle.

Schmelzpunkt.: 136 bis 138 °C (n-Hexan)

α_D : - 37 ° (CHCl₃)

¹H-NMR: 1.01 (s, 3H, H-18), 1.40 (s, 3H, H-19), 1.91 (s, 1H, OH), 3.78 (s, 3H, OCH₃), 5.8 (m, 1H, H-16); 6.63, 6.73, 7.22 (3H, arom.H)

HPLC: 92,8 % F bei 280 nm, LC/MS: M⁺ +1 = 347 (98,9 % F)

Beispiel 7

17-Chlor-17 α -ethinyl-17 α -homöestra-1,3,5(10),16-tetraen-3,17 β -diol (Beispiel 7, J 1854)

1,35 g 17-Chlor-17 α -ethinyl-3-methoxy-17 α -homöestra-1,3,5(10),16-tetraen-17 β -ol werden in 15 ml Dichlormethan mit Tetrabutylammoniumiodid und 12 ml Bortrichlorid

(1 M in Dichlormethan) nach Beispiel 1 umgesetzt. Man erhält 4,4 g Rohprodukt als braunes Harz, das mittels Flash-Chromatographie an Toluol / Aceton - Gradienten gereinigt und aus Ether/ n-Hexan umkristallisiert wird. Die 1,23 g gereinigte 6438 wird aus Diethylether / n-Hexan umkristallisiert.

Man erhält 594 mg 17-Chlor-17 α -ethinyl-17 α -homöestra-1,3,5(10),16-tetraen-3,17 β -diol

Schmp.: 172 bis 177 °C (Diethylether / n-Hexan)

α_D : - 131 ° (CHCl₃)

¹H-NMR (300 MHz, DMSO, TMS): 0.84 (s, 3H, H-18), 2.50 (m, 2H, CH₂), 2.69 (s, 1H, C≡CH), 5.82 (d, 1H, H-16), 6.43 (d, 1H, C-4 arom.CH), 6.51 (dd, 1H, C-2 arom.CH), 7.07 (d, 6,6 Hz, C-1 arom. CH), 9.00 (s, 1H, OH)

HPLC: 99,3 % F bei 280 nm, GC/MS: M⁺ = 343 (M⁺ +1) 98.9 % F

Beispiel 8

17-Chlor-17 α -propinyl-17a-homoestra-1,3,5(10),16-tetraen-3,17a β -diol (Beispiel 8, J 1853)

835 mg 17-Chlor-3-methoxy-17 α -propinyl-17a-homoestra-1,3,5(10),16-tetraen-17a β -ol werden in 20 ml Toluol unter Argon mit 4 ml Diisobutylaluminiumhydrid (DIBAH – Lsg. 95%-ig in Toluol) nach Beispiel 1 Stufe C gespalten. Man erhält nach üblicher Aufarbeitung 800 mg hellen Schaum an 17-Chlor-17 α -propinyl-17a-homoestra-1,3,5(10),16-tetraen-3,17a β -diol, der mittels präparativer Schichtchromatographie mit einem Toluol / Dichlormethan Gemisch gereinigt und aus Aceton umkristallisiert wird. Ausbeute: 137 mg

Schmp.: 101 bis 104 °C (Aceton)

α_D : - 144 ° (CHCl₃)

¹H-NMR (300 MHz, DMSO, TMS): 0.97 (s, 3H, H-18), 2.56 (s, 1H, C≡CCH₃), 5.15 (s, 1H, OH), 5.84 (d, 1H, H-16), 6.56 (d, 1H, C-4 arom.CH), 6.65 (dd, 1H, C-2 arom.CH), 7.17 (d, 6,6 Hz, C-1 arom. CH).

HPLC: 97,5 % F bei 278 nm, GC/MS: M⁺ = 357 (M⁺ +1) 99.0 % F

Herstellung der Ausgangsverbindung

Stufe A

17-Chlor-3-methoxy-17 α -propinyl-17a-homoestra-1,3,5(10),16-tetraen-17a β -ol

660 mg 17-Chlor-3-methoxy-17a-homoestra-1,3,5(10),16-tetraen-17a-on werden in 20 ml trockenem Tetrahydrofuran bei -40°C nach Beispiel 7 mit 30 ml einer 0,5 M-Lösung von Propinylmagnesiumbromid in Tetrahydrofuran umgesetzt und wie üblich aufgearbeitet. Man erhält 835 mg 17-Chlor-3-methoxy-17 α -propinyl-17a-homoestra-1,3,5(10),16-tetraen-17a β -ol als hellbraunen Schaum, der durch Chromatographie gereinigt wird.

Schmelzpunkt: 157 bis 162 °C (tert.-Butylmethylether)

α_D : - 153 ° (CHCl₃)

¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃, TMS): 0.97 (s, 3H, H-18), 1.91 (s, 1H, C \equiv CCH₃), 3.78 (s, 3H, OCH₃), 5.84 (d, 1H, H-16), 6.62 (d, 1H, C-4 arom.CH), 6.73 (dd, 1H, C-2 arom.CH), 7.23 (d, 6,6 Hz, C-1 arom. CH).

HPLC: 94,3 % F bei 280 nm, LC/MS: 371 (M⁺ +1) 93,6 % F

Beispiel 9

17-Chlor-(17 α),21-(4'-methylsulfonylphenyl)-17a-homogona-1,3,5(10),16-tetraen-20-yn-3,17a β -diol

346 mg 4-Bromphenylmethylsulfon, 5 mg Palladium-II-chlorid, 7,3 mg Triphenylphosfin und 2,7 mg Kupfer-I-iodid in 14 ml Tetrahydrofuran und 7 ml Triethylamin werden bei Raumtemperatur gerührt und bis zum Siedepunkt erwärmt. 480 mg 17-Chlor-17 α -ethinyl-17a-homoestra-1,3,5(10),16-tetraen-17a β -diol in 14 ml Tetrahydrofuran werden zugefügt. Nach 12 Stunden wird die Lösung in Eiswasser gegossen, mit Dichlormethan extrahiert, mit 2N HCl behandelt und anschliessend mit Wasser neutral gewaschen, mit Natriumsulfat getrocknet, filtriert und eingengt. Man

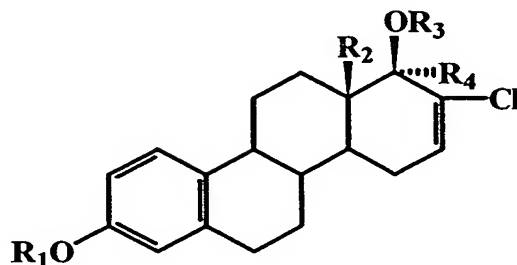
erhält 830 mg Rohprodukt , das durch präparative . Schichtchromatographie gereinigt wird . Man erhält 154 mg 17-Chlor-(17 α),21-(4'-methylsulfonylphenyl)-17 α -homogona-1,3,5(10),16-tetraen-20-yn-3,17 β -diol als Schaum .

$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, CDCl_3 , TMS): 0.92 (s, 3H, H-18), 3.22, 3.34 (s, 3H, CH_3), 5.92 (d, 1H, H-16), 6.11 (s, 1H, OH), 6.44 (d, 1H, C-4 arom.CH), 6.52 (dd, 1H, C-2 arom.CH), 7.08 (d, 6,6 Hz, C-1 arom. CH), 7,69 und 7.90 (d, je 2 H, HC-arom.), 9.00 (s, 1H, OH).

HPLC: 94,3 % F bei 280 nm, LC/MS: 497 ($\text{M}^+ +1$) 98,9 % F

Patentansprüche

1. 17-Chlor-D-Homosteroide der allgemeinen Formel I



(I)

worin

R_1 ein Wasserstoffatom oder einen C_{1-6} Alkanoyl- oder Benzoylrest,

R_2 eine C_{1-6} Alkylgruppe,

R_3 ein Wasserstoffatom, einen C_{1-6} Alkyl-, C_{1-6} Alkanoyl- oder Benzoylrest und

R_4 ein Wasserstoffatom, einen C_{1-6} Alkylrest, eine C_nF_{2n+1} Gruppe, in der $n=1, 2$ oder 3 ist, oder eine $C\equiv CR_5$ -Gruppe, in der R_5 ein Wasserstoffatom, ein C_{1-6} Alkylrest oder ein unsubstituierter oder substituierter Phenylrest ist, bedeuten.

2. Verbindungen der allgemeinen Formel I nach Anspruch 1, nämlich

17-Chlor-17 α -ethinyl-17a,18a-dihomo-estra-1,3,5(10),16-tetraen-3,17 β -diol

17-Chlor-17 α -propinyl-17a,18a-dihomo-estra-1,3,5(10),16-tetraen-3,17 β -diol

17-Chlor-13 β -ethyl-17 α -methyl-17a,18a-dihomo-estra-1,3,5(10),16-tetraen-3,17 β -diol

17 β -Acetoxy-17-chlor-17 α -methyl-17a,18a-dihomo-estra-1,3,5(10),16-tetraen-3-ol

17-Chlor-17 α -(trifluormethyl)- 17a,18a-dihomo-estra-1,3,5(10),16-tetraen-3,17a β -diol

17-Chlor-17 α -(pentafluorethyl)- 17a,18a-dihomo-estra-1,3,5(10),16-tetraen-3,17a β -diol

17-Chlor-17 α -methyl-17a β -(methoxy)-17a,18a-dihomo-estra-1,3,5(10),16-tetraen-3-ol

17-Chlor-17a-homoestra-1,3,5(10),16-tetraen-3,17a β -diol

17-Chlor-17 α -(trifluormethyl)-17a-homoestra-1,3,5(10),16-tetraen-3,17a β -diol

17-Chlor-17 α -(pentafluorethyl)-17a-homoestra-1,3,5(10),16-tetraen-3,17a β -diol

17-Chlor-17 α -methyl-17a-homoestra-1,3,5(10),16-tetraen-3,17a β -diol

17-Chlor-17 α -ethyl-17a-homoestra-1,3,5(10),16-tetraen-3,17a β -diol

17-Chlor-17 α -ethinyl-17a-homoestra-1,3,5(10),16-tetraen-3,17a β -diol

17-Chlor-17 α -propinyl-17a-homoestra-1,3,5(10),16-tetraen-3,17a β -diol

17-Chlor-17 α -(trifluormethyl)-17a-homoestra-1,3,5(10),16-tetraen-3,17a β -diol-diacetat

17a β -Acetoxy-17-chlor-17 α -(trifluormethyl)-17a-homoestra-1,3,5(10),16-tetraen-3-ol

17-Chlor-17a β -methoxy-17 α -(trifluormethyl)-17a-homoestra-1,3,5(10),16-tetraen-3-ol

17-Chlor-(17 α)-21-(4'-methylsulfonylphenyl)-17a,18a-dihomogona-1,3,5(10),16-tetraen-20-yn-3,17a β -diol

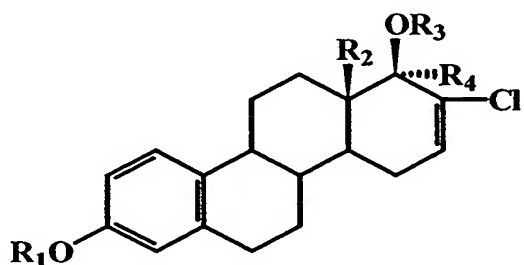
17-Chlor-(17 α)-21-(phenyl)-13 β -methyl-17a-homogona-1,3,5(10),16-tetraen-20-yn-3,17a β -diol

17-Chlor-(17 α)-21-(4'-cyanophenyl)-13 β -methyl-17a-homogona-1,3,5(10),16-tetraen-20-yn-3,17a β -diol

17-Chlor-(17 α)-21-(4'-acetylaminophenyl)-13 β -methyl-17a-homogona-1,3,5(10),16-tetraen-20-yn-3,17a β -diol

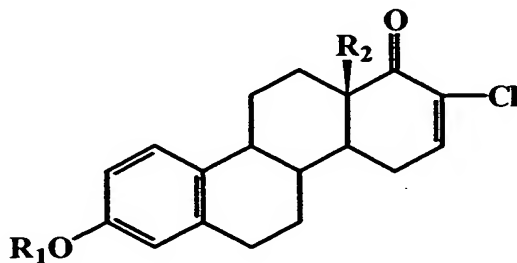
17-Chlor-(17 α)-21-(4'-hydroxyphenyl)-13 β -methyl-17a-homogona-1,3,5(10),16-tetraen-20-yn-3,17a β -diol

3. Verfahren zur Herstellung von 17-Chlor-D-Homosteroiden der allgemeinen Formel der allgemeinen Formel I nach Anspruch 1



(I)

dadurch gekennzeichnet, daß man ein 17-Chlor-1,3,5(10),16-tetraen-17-on der allgemeinen Formel II



(II)

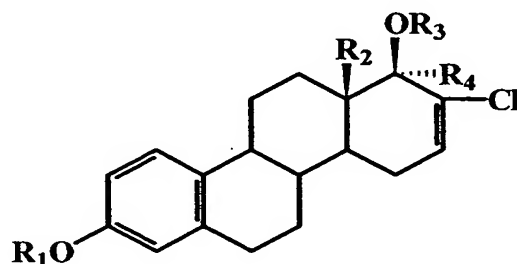
worin

R_1 ein Wasserstoffatom, einen C_{1-6} Alkyl-, einen C_{1-6} Alkanoyl- oder Benzoylrest,

R_2 eine C_{1-6} Alkylgruppe,

bedeuten

mit einem magnesiumorganischen Reagenz der allgemeinen Formel $BrMgAlkyl$, $BrMgAlkenyl$ oder $BrMgAlkynyl$ oder mit Acetylen oder einem alkyl- oder arylsubstituierten Acetylen in Gegenwart von Basen wie *tert*-BuOK oder mit einer lithiumorganischen Verbindung wie LiC_2F_5 oder mit einer siliciumorganischen Verbindung wie Trifluormethyltrimethylsilan in eine 17α -substituierte Verbindung der allgemeinen Formel III überführt,



(III)

worin R_1 ein Wasserstoffatom, ein C_{1-6} Alkyl- oder C_{1-6} Alkanoyl- oder Benzoylrest ist und R_2 eine C_{1-6} Alkylgruppe ist, R_3 ein Wasserstoffatom, ein Metallatom oder eine Silylgruppe ist und R_4 ein Wasserstoffatom, eine C_{1-6} Alkylgruppe, eine C_nF_{2n+1} -Gruppe ist, bei der $n=1, 2$ oder 3 bedeutet, oder eine $C\equiv CR_5$ -Gruppe ist, bei der R_5 ein Wasserstoffatom, ein C_{1-6} Alkylrest oder ein unsubstituierter oder substituierter Phenylrest ist,

wobei im Falle von $R_5 = \text{Wasserstoff}$ die freie 17α -Ethinylverbindung der allgemeinen Formel III durch eine SONAGASHIRA-Reaktion zu Verbindungen mit $R_5 = C_6H_4R_6$, worin R_6 für eine freie oder substituierte Hydroxylgruppe, Aminogruppe, Thiolgruppe, Sulfamatgruppe, Sulfonylgruppe oder eine C_{1-6} Alkyl- oder C_6-12 -Arylgruppe steht, weiter modifiziert wird.

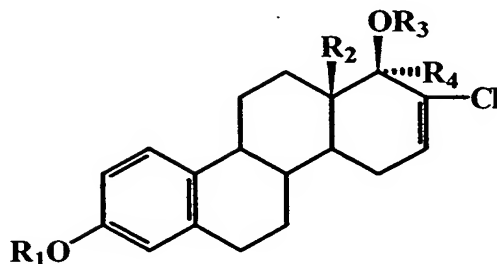
4. Verfahren nach Anspruch 3, dadurch gekennzeichnet, dass Verbindungen der Formel III, wobei R_1 ein C_{1-6} Alkylrest ist durch Etherspaltung in die freie Hydroxylgruppe überführt wird.
5. Verfahren nach Anspruch 3 dadurch gekennzeichnet, dass Verbindungen der Formel III, wobei R_1 ein Acylrest ist, durch Esterspaltung in die freie Hydroxylgruppe überführt wird.
6. Verfahren nach Anspruch 3, dadurch gekennzeichnet, dass Verbindungen der Formel III, wobei R_3 ein Wasserstoffatom ist, in an sich bekannter Weise in Ether oder Ester überführt werden.
7. Verwendung der Verbindungen der allgemeinen Formel I gemäß Anspruch 1 zur Herstellung von Arzneimitteln für die Kontrazeption bei der Frau.
8. Verwendung der Verbindungen der allgemeinen Formel I gemäß Anspruch 1 zur Herstellung von Arzneimitteln für die Kontrazeption beim Mann.
9. Verwendung der Verbindungen der allgemeinen Formel I gemäß Anspruch 1 zur Herstellung von Arzneimitteln zur Behandlung von gutartigen oder bösartigen proliferativen Erkrankungen des Ovars.
10. Verwendung nach Anspruch 9 zur Behandlung von Ovarialcarcinomen.
11. Verwendung nach Anspruch 9 zur Behandlung von Granulosazelltumoren.

12. Pharmazeutische Zusammensetzungen, enthaltend mindestens eine Verbindung gemäß Anspruch 1 oder 2 sowie einen pharmazeutisch verträglichen Träger.

13. Pharmazeutische Zusammensetzungen nach Anspruch 12, die neben mindestens einer Verbindung der allgemeinen Formel I gemäß Anspruch 1 mindestens eine Verbindung ausgewählt aus der Gruppe der GnRH-Antagonisten, Progesteronrezeptorantagonisten, Mesoprogestinen, Gestagenen oder gewebe selektiven Gestagenen enthalten.

Zusammenfassung

Die vorliegende Erfindung betrifft die 17-Chlor-D-Homosteroide der allgemeinen Formel I



(I)

worin

R_1 ein Wasserstoffatom oder einen C_{1-6} Alkanoyl- oder Benzoylrest,
 R_2 eine C_{1-6} Alkylgruppe,
 R_3 ein Wasserstoffatom, einen C_{1-6} Alkyl-, C_{1-6} Alkanoyl- oder Benzoylrest und
 R_4 ein Wasserstoffatom, einen C_{1-6} Alkylrest, eine C_nF_{2n+1} Gruppe, in der $n=1, 2$ oder 3 ist, oder eine $C\equiv CR_5$ -Gruppe, in der R_5 ein Wasserstoffatom, ein C_{1-6} Alkylrest oder ein unsubstituierter oder substituierter Phenylrest ist,
 bedeuten.

Die neuen Verbindungen sind zur Kontrazeption beim Mann und der Frau einsetzbar, ohne daß sie andere Östrogen-sensitive Organe wie den Uterus oder die Leber beeinflussen.

Sie sind auch zur Behandlung von gutartigen oder bösartigen proliferativen Erkrankungen des Ovars, wie Ovarialcarcinomen und Granulosazelltumoren geeignet.